Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. M. Bürger.

Über das Unverseifbare in Psoriasis-Schuppen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn.

Vorgelegt am 2. Juni 1937

von

Dr. phil. nat. **Karl Blankenburg**

Arzt

aus Bonn.

Anton Brand, Bonn
Bonn 1937

Gedruckt
mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Professor Dr. Max Bürger

Korreferent: Prof. Dr. Otto Grütz

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Theoretischer Teil

Bürger und Reinhard[1]) konnten 1918 zeigen, daß sich beim Menschen nach carotinreicher Kost eine Gelbfärbung der Haut hervorrufen läßt. Diese alimentäre Xanthosis hat zur Voraussetzung, daß die Träger der Carotine (die Nahrungsfette) mit dem Farbstoff gemeinsam in die Haut eindringen können. Damit war zum ersten Mal ein Zusammenhang zwischen Haut und Fettstoffwechsel wahrscheinlich gemacht. In der Folge haben die Arbeiten von Bürger und Grütz an Lipoidose-Kranken gezeigt, daß durch diätetische Fettbeschränkung die Lipoidinfiltrationen der Haut zum Verschwinden zu bringen sind. Schließlich wurde von denselben Autoren auch die Psoriasis als eine Lipoid-Stoffwechselstörung aufgefaßt und dementsprechend mit Erfolg diätetisch behandelt. Bei dieser Sachlage war es naheliegend, sich über die Lipoide in den obersten Epidermisschichten eingehender als bisher geschehen zu unterrichten und zu fragen, ob neben den bekannten Sterinen und Lipoiden noch unbekannte unverseifbare Substanzen sich befinden, die im Stoffwechsel der Lipoide von Bedeutung sein können. Eine solche Annahme lag um so näher, als in unserem Laboratorium eine Vermehrung der Lipoide im Serum vieler Psoriatiker nachgewiesen wurde. Cueni zeigte durch Errechnung, daß noch andere unverseifbare Substanzen an der Vermehrung der Lipoide im Serum der Psoriatiker beteiligt sind.

Das Problem der unverseifbaren Substanzen ist Gegenstand einer Reihe von Arbeiten der letzten

Jahrzehnte gewesen. Im Gegensatz zu den echten Fetten, die in der Hauptsache aus Tripalmitin, Tristearin und Triolein bestehen, also Glycerin als unverseifbare Substanz enthalten, setzen sich die Fette der Hautoberfläche im wesentlichen aus Fettsäureestern hochmolekularer Alkohole znsammen. So wurde das Sekret der Bürzeldrüsen der Gänse neben von de Jonge[2] und Plato[3] insbesondere von Röhmann[4] untersucht. Die Bürzeldrüsen sind Drüsen, die über den untersten Schwanzwirbeln beiderseits von der Mittellinie im Fettgewebe der Haut eingelagert sind. Nach Röhmanns Untersuchungen sind als unverseifbare Substanzen zwei Alkohole im Bürzeldrüsensekret enthalten, das Glycerin zu 2,4 bis 5,1 % und ein hochmolekularer Alkohol, der Oktadecylalkohol $C_{18}H_{37}OH$ zu 40 bis 45 %. Die Fettsäuren sind also nur zum kleineren Teil an das Glycerin, zum weitaus größten Teil an den Oktadecylalkohol gebunden. Das untersuchte Sekret ist nach seinen Ausführungen frei von Cholesterin und Cholesterinestern.

Unter den Hautfetten der Säugetiere ist das Wollfett der Schafe eingehend auf unverseifbare Substanzen untersucht worden. Auch hier ist bemerkenswert das fast vollständige Fehlen des Glycerins als unverseifbare Substanz, dagegen konnten gleichfalls hochmolekulare Alkohole nachgewiesen werden. So fanden Darmstädter und Lifschütz[5]) neben Cholesterin den Cerylalkohol $C_{26}H_{53}OH$ und den Carnaubylalkohol $C_{24}H_{49}OH$. Des weiteren wurde genau untersucht das Hautfett des Pottwals, das Walrat. Aus ihm isolierte man als unverseifbare Substanz den Cetylalkohol $C_{16}H_{33}OH$.

Mit menschlichen Fetten beschäftigte sich zuerst Sotnitschewsky[6]). Er untersuchte den Inhalt einer Dermoidcyste und fand als unverseifbare Substanz einen Körper mit dem Schmelzpunkt 63°, den er auf Grund von Analysenergebnissen (Kohlenstoffgehalt von 80 % und Wasserstoffgehalt von 13,5 %) als Cetylalkohol ansprach, obwohl der Schmelzpunkt zu hoch war, da der des reinen Cetylalkohols bei 49° liegt. Er nahm an, daß der ermittelte höhere Schmelzpunkt durch Beimengung von höherschmelzenden Substanzen bedingt sei. Aus 543 g Cystenmasse wurden von ihm 0,892 g des vermeintlichen Cetylalkohols isoliert. E. Ludwig[7]) bestätigte im wesentlichen seine Untersuchungsergebnisse, glaubte also auch, als unverseifbare Komponente Cetylalkohol gefunden zu haben. Lieblein[8]) fand bei der Untersuchung des Dermoidcystenmaterials neben Cholesterin einen Körper vom Schmelzpunkt 53—55°, also einen um rund 10° tiefer schmelzenden Körper als Sotnitschewsky und kam so dem Schmelzpunkt des reinen Cetylalkohols schon wesentlich näher. Im gleichen Jahre wurde wiederum dasselbe Material auch von von Zeynek[9]) untersucht. Interessant ist, daß dieser Forscher bei der Untersuchung der Fettsäuren neben Palmitin- und Stearinsäure auch Arachinsäure $C_{19}H_{39}COOH$, das Oxydationsprodukt des Eikosylalkohols $C_{20}H_{41}OH$, fand. Das Unverseifbare wurde mit Äther extrahiert, nach dem Verdunsten des Äthers mit absolutem Alkohol aufgenommen und neben Cholesterinkristallen ein Körper vom Schmelzpunkt 69—71° isoliert. Außerdem hinterblieb ein flüßiger Anteil der Ätherausschüttlung, der frei von Stickstoff, Schwefel, Phosphor

und Halogenen war. Eine vorgenommene fraktionierte Destillation dieses Körpers führte nicht zu seiner Identifizierung. Linser[10]) untersuchte Hautfett, das er durch Abreibung der Haut mit Petroläther-Wattebäuschen gewann. Er extrahierte die Wattebäusche mit Alkohol und Chloroform im Soxlethapparat, trocknete die Extrakte auf dem Wasserbad und zog den Rückstand mit Äther aus. Nach seinen Untersuchungen ergab sich, daß 40—45 % des Gesamtätherextraktes unverseifbar waren. Diese gleiche unverseifbare Substanz fand Linser auch bei der Untersuchung von Ovarialdermoidcysten. Er lehnte die Alkoholnatur der isolierten Substanz ab, da sie nach seiner Meinung nicht acetylierbar war und stellte sich so im Gegensatz zu den Forschern, die vor ihm die gleiche Substanz untersucht hatten.

Obwohl bis dahin kein einheitliches Resultat erzielt worden war, unterblieben für die nächsten zwei Jahrzehnte weitere Arbeiten und erst Ameseder[11] griff das Problem der unverseifbaren Substanzen des Dermoidcystenfettes 1907 wieder auf. Im Gegensatz zu Linser gelang ihm die Acetylierung der fraglichen Substanz, und er konnte somit in ihr Körper mit Alkoholnatur nachweisen. Durch chemische Beweisführung identifizierte er sie als Eikosylalkohol mit dem Schmelzpunkt 70°; denn neben der Isolierung des Acetylierungsproduktes erhielt er durch Oxydation die zugehörige Säure, Arachinsäure.

Über den Gesamtfettgehalt der Haut liegen genaue Resultate bisher nicht vor. Eckstein und Wile[12]) untersuchten Schuppen von Patienten mit Dermatitis exfoliativa und erhielten Ergebnisse, die in folgender Tabelle zusammengestellt sind:

Gesamt-lipoidgehalt der Schuppen in %	Gesamt-cholesteringehalt der Schuppen		Gehalt an freiem Cholesterin in % der Gesamt-lipoide	Phosphorlipoid-gehalt der Schupppen	
	in %	in % der Gesamt-lipoide		in %	in % der Gesamt-lipoide
7,2	1,50	22,8	20,5	0,19	2,50
8,2	1,70	22,1	20,1	0,22	2,68
7,3	1,34	18,3	16,8	0,23	3,15
6,9	1,23	17,9	16,2	0,19	2,75

Diese Ergebnisse sind inbezug auf den Gesamt-lipoidgehalt so niedrig, daß aller Wahrscheinlichkeit nach das Ausgangsmaterial mangelhaft getrocknet war.

In der vorliegenden Arbeit wurden als Material Psoriasis-Schuppen einer unvorbehandelten Patientin auf Gesamtlipoidgehalt untersucht. Die nach Abzug des Gesamtcholesterins und Glycerins verbleibende restliche unverseifbare Substanz wurde erstmalig quantitativ erfaßt. In dieser restlichen unverseifbaren Substanz konnten zwei Alkohole nachgewiesen werden, nämlich der Cetyl- und der Eikosylalkohol.

Die nächste Aufgabe wird sein, normale Haut auf diese beiden Alkohole zu untersuchen. Sollten diese Alkohole dort gefunden werden, so wird es interessant sein, ihre Mengenverhältnisse in der normalen Haut mit denen der Psoriatikerschuppen zu vergleichen.

Experimenteller Teil

Das zur Verfügung stehende Material an Schuppen wurde im Vakuumexsikkator über Chlorcalcium bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und in kleineren Portionen zuerst mit Äther, dann mit Alkohol extrahiert. Die Extraktion wurde solange durchgeführt, bis die Liebermann-Burchardsche Reaktion mit einer kleinen entnommenen Probe negativ verlief. Die so erhaltenen Extrakte wurden auf dem Sandbade zur Trockne gebracht und dann mit Äther aufgenommen. In einem kleinen Teil dieser ätherischen Lösung wurde der Gesamtlipoidgehalt, die Menge des freien und des Gesamtcholesterins (Digitoninmethode) und der Gehalt an Phosphor (Methode von Embden) ermittelt. Durch Multiplikation des gefundenen Phosphorwertes mit dem Faktor 26,3 wurde auf den Lecithingehalt geschlossen unter der Annahme, daß die außerdem vorhandenen Phosphatide eine dem Lecithin naheliegende molekulare Zusammensetzung haben. Die ermittelten Werte sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

Gesamtlipoidgehalt der getrockneten Schuppen	Gesamtcholesteringehalt der Schuppen		Gehalt an freiem Cholesterin		Phosphorlipoidgehalt	
	in %	in % der Gesamtlipoide	in %	in % der Gesamtliqoide	in %	in % der Gesamt-
21,11	1,00	4,73	0,88	4,17	1,20	5,68
21,18	0,98	4,63	0,88	4,16	1,18	5,66
		Mittelwerte:				
21,15	0,99	4,68	0,88	4,17	1,19	5,67

Alsdann wurde der nach Abzug des Gesamtcholesterins verbleibende Rest an unverseifbaren Substanzen quantitativ erfaßt. Zu diesem Zweck wurde der Rest des ätherischen Extraktes zur Trockne gebracht und mit alkoholischem Natron verseift, der Alkohol im Vakuum zum größten Teile abgesaugt und aus dem Rückstande nach Zugabe von Wasser das Unverseifbare mit Petroläther ausgeschüttelt. Nach Absaugen des Petroläthers im Vakuum und Aufnahme des Rückstandes in Alkohol wurde das Gesamtcholesterin mit Digitonin ausgefällt. Das erhaltene cholesterinfreie Filtrat wurde wiederum im Vakuum zur Trockne gebracht und das von der Cholesterinfällung vorhandene überschüssige Digitonin nach der Methode von Lifschütz[13] mit Natriumacetat beseitigt. Die hierbei erhaltene ätherische Lösung des Restunverseifbaren wurde nach dem Einengen durch wiederholte Aufnahme mit Alkohol und Wasser und Ausschütteln mit Äther vollkommen acetatfrei gemacht. Der nach dem Verjagen des Äthers zurückbleibende Körper (UX, d. h. Restunverseifbares genannt) war von gelber Farbe, hatte einen Schmelzpunkt von 36—39° und war löslich in Äther, Petroläther, Aceton, Chloroform, heißem Alkohol, unlöslich in Wasser. Proben auf Stickstoff und Phosphor verliefen negativ. Aus 100 g Schuppen konnten 4,90 g dieses gelben Körpers, also des Restunverseifbaren, isoliert werden oder umgerechnet auf 100 g Schuppenfett 23,17 g. Bemerkenswert ist wohl in diesem Zusammenhang, daß 100 g Schuppenfett dagegen nur 4,68 g Gesamtcholesterin (siehe Tabelle S. 7) enthielten. Versuche, durch fraktionierte Kristallisation in den angeführten Lösungsmitteln zu einheit-

lich kristallisierten Produkten zu gelangen, scheiterten. Daher wurde die fraktionierte Destillation unter vermindertem Druck versucht. Nach umfangreichen Vorversuchen wurden drei Fraktionen bei 3 mm Druck aufgegangen, die erste Fraktion bis 210°, die zweite von 210—235° und die dritte von 235—263°. Bei 263° wurde die Destillation abgebrochen, da der zurückgebliebene Rückstand etwa $^1/_5$ des Ausgangsmaterials betragend, sich unter bräunlichen Dämpfen zu zersetzen schien. Die erste schwach gelbgefärbte Fraktion blieb flüssig. Die Liebermann-Burchardsche Probe zeigte folgende Färbung, erst gelb, gelbrot, rot, dann grün, an Intensität sehr schnell zunehmend. Nach Stunden verblaßte die grüne Färbung, und es schieden sich bräunliche Flocken ab. Eine angestellte Acetylierung dieser Fraktion verlief, wie alle anderen Versuche, einen Einblick in die chemische Zusammensetzung dieser Fraktion zu bekommen, negativ.

Die zweite, ebenfalls schwachgelbe Fraktion blieb bei Zimmertemperatur flüssig. Nach kurzem Abkühlen im Eisschrank schied sie sich in einen flüssigen und festen Anteil. Durch Abzentrifugieren unter Eiskühlung wurde der feste Anteil abgetrennt. Versuche, diese Substanz zu einem einheitlichen Produkt umzukristallisieren, führten bei Anwendung eines Gemisches von absolutem Alkohol und Dioxan zu einem Körper mit dem Schmelzpunkt von 49°. Dieser Körper konnte als Cetylalkohol $C_{16}H_{33}OH$ identifiziert werden. Es gelang seine Acetylierung, sein Mischschmelzpunkt mit reinem Cetylalkohol zeigte keine Erniedrigung. Ein Teil des Alkohols wurde mit Chromsäure in Eisessiglösung oxydiert und ein kristallisiertes Oxydationsprodukt mit dem

Schmelzpunkt von 62° aufgearbeitet. Der Mischschmelzpunkt dieses Oxydationsproduktes mit Palmitinsäure ergab keine Veränderung. Der Alkohol und die durch Oxydation erhaltene Säure, die Palmitinsäure, wurden dann einer Analyse auf Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt unterzogen.*)

Berechnet	für Cetylalkohol $C_{16}H_{33}OH$	Gefunden
79,25%	Kohlenstoff	79,18%
14,15%	Wasserstoff	14,12%
Berechnet	für Palmitinsäure $C_{15}H_{31}COOH$	Gefunden
74,93%	Kohlenstoff	74,83%
12,59%	Wasserstoff	12,49%.

11,7 mg der Palmitinsäure brauchten zur Neutralisation 5,30 ccm $\frac{n}{100}$ Kalilauge gleich 2,97 mg; berechnet wurden hierfür 2,95 mg.

Eine Aufarbeitung des flüssigen Anteils der zweiten Fraktion verlief ergebnislos.

Die dritte Fraktion von intensiv gelber Farbe wurde nach dem Erkalten fest. Nach Lösung in absolutem Alkohol wurde unter Zusatz von Tierkohle einige Minuten gekocht und filtriert. Im Vakuum wurde der Alkohol wieder abgesaugt und der Rückstand aus einem Gemisch von absolutem Alkohol und Dioxan umkristallisiert. Es konnte hierbei ein kristallisierter Körper mit dem Schmelzpunkt von 66° gewonnen werden. Eine kleine Menge dieser Substanz wurde mit Essigsäureanhydrid etwa 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht und ein Acetylierungspunkt mit dem Schmelzpunkt von 43° erhalten. Ein anderer Teil des kristallisierten Körpers mit dem Schmelzpunkt

*) Die Kohlenstoff- und Wasserstoff-Bestimmungen dieser Arbeit verdanke ich dem Chemischen Institut der Universität·

von 66° wurde mit Chromsäure in Eisessiglösung oxydiert. Das aufgearbeitete Oxydationsprodukt hatte einen Schmelzpunkt von 75°. Ein durchgeführter Mischschmelzpunkt des Oxydationsproduktes mit Arachinsäure $C_{19}H_{39}COOH$ ergab den gleichen Wert. Bei dem isolierten Produkt von 66° handelte es sich um den Eikosylalkohol $C_{20}H_{41}OH$. Ein Mischschmelzpunkt war nicht durchführbar, da Eikosylalkohol nicht zu beschaffen war. Vom isolierten Alkohol, seinem Acetylierungsprodukt und der durch Oxydation erhaltenen Arachinsäure wurden ebenfalls Kohlenstoff- und Wasserstoff-Bestimmungen durchgeführt.

Berechnet für Eikosylalkohol $C_{20}H_{41}OH$		Gefunden
80,44 %	Kohlenstoff	80,16 %
14,19 %	Wasserstoff	14,11 %
Berechnet für das Acetylierungsprodukt des Alkohols $C_{20}H_{41}OOCCH_3$		Gefunden
77,57 %	Kohlenstoff	77,19 %
13,03 %	Wasserstoff	12,78 %
Berechnet für Arachinsäure $C_{19}H_{39}COOH$		Gefunden
76,84 %	Kohlenstoff	76,47 %
12,91 %	Wasserstoff	12,50 %.

25,3 mg der Arachinsäure brauchten zur Neutralisation 8,20 ccm $\frac{n}{100}$ Kalilauge gleich 4,60 mg; berechnet wurden hierfür 4,55 mg.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Max Bürger, bin ich für die Überlassung des Themas und die Anregungen, die er mir bei der Durchführung der Arbeit gab, zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

1. Bürger und Reinhard, Z. exper. Med. 7, 119 (1918) Dtsch. med. Wschr. 1919 I.
2. de Jonge, Hoppe-Seylers Z. 2, 156; 3, 225 (1879).
3. Plato, Verh. d. dtsch. dermat. Ges. 1901, 182.
4. Röhmann, Hofmeisters Beitr. chem. Physiol. u. Path. 5, 110 (1904).
5. Darmstädter und Lifschütz, Ber. dtsch. chem. Ges. 28, 3133; 29, 618, 1474 u. 2890; 31,97 u. 1122.
6. Sotnitschewsky, Hoppe-Seylers Z. 4, 345 (1880).
7. Ludwig, Hoppe-Seylers Z. 23,38 (1897).
8. Lieblein, Hoppe-Seylers Z. 21,285 (1895).
9. von Zeynek, Hoppe-Seylers Z. 23,40 (1897).
10. Linser, Dtsch. Arch. klin. Med. 80,201 (1904)
11. Ameseder, Hoppe-Seylers Z. 52,121 (1907).
12. Eckstein und Wile, J. of biol. Chem. 67,59 (1926) 69,181 (1926).
13. Lifschütz, Biochem. Zeitschr. B 282,441 (1935).
14. Bürger, Einführung in die pathologische Physiologie.

Lebenslauf.

Ich, Carl Blankenburg, katholischer Konfession, wurde am 23. März 1905 in Essen-Rüttenscheid als Sohn des verstorbenen juristischen Beamten Wilhelm Blankenburg und seiner Ehefrau Lilly geborenen Ohms geboren. Bis einschließlich Obertertia Ostern 1920 besuchte ich das Gymnasium zu Essen-Rüttenscheid, alsdann das Realgymnasium zu Essen-Bredeney, woselbst ich Ostern 1924 das Zeugnis der Reife erlangte. Vom April bis Oktober 1924 war ich als Praktikant im chemischen Laboratorium der Firma Fried. Krupp A. G., Essen, tätig. Seit Oktober 1924 studierte ich Chemie an den Universitäten Heidelberg und Bonn. Im Winter-Semester 1926/27 legte ich in Heidelberg das erste Verbandsexamen, im Sommer-Semester 1928 in Bonn das zweite Verbandsexamen ab. Am 29. April 1930 promovierte ich auf Grund der mit sehr gut bewerteten Arbeit „Beitrag zur Kenntnis der Diazo-Verbindungen und ihrer Kupplungsreaktionen" zum Dr. phil. nat. Vom 1. April 1930 bis zum 1. Oktober 1935 war ich Assistent am Chemischen Institut der Universität Bonn. Vom Sommer-Semester 1931 ab studierte ich gleichzeitig Medizin, legte im Sommer-Semester 1932 das Physikum ab und bestand am 1. Dezember 1935 das medizinische Staatsexamen. Seit dieser Zeit bin ich an der Medizinischen Poliklinik der Universität Bonn tätig. Am 1. Dezember 1936 erhielt ich meine Bestallung als Arzt. Im Dezember 1935 begann ich mit der vorliegenden Arbeit, die ich am 1. April 1937 beendete.